

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1985

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1985

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИ-
МОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН,
Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ,
Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС,
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТАРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

*Т. Ш. Шарманов, Ф. Х. Тахтаев, Ш. С. Тажибаяв,
А. А. Мамырбаев, В. Н. Пивень*

ВЛИЯНИЕ ХАРАКТЕРА ПИТАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ТРАНСПОРТНЫХ АТФаз МЕМБРАН СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ И ПЕЧЕНИ

Казахский филиал Института питания АМН СССР, Алма-Ата

Взаимодействия гормонов, медиаторов, ксенобиотиков, различных токсинов и отдельных факторов питания с биомембранами составляют важное звено в проявлении их физиологических функций и токсических эффектов. Среди биохимических компонентов пищи особое место отводят жирорастворимым витаминам, высокая биологическая активность которых в сочетании с липофильной природой, обеспечивает не только встраивание в липидную фазу биомембран, но и регуляцию их функций [10, 14, 17].

Присутствие жирорастворимых витаминов в мембранах в качестве минорных компонентов предопределяет возможность их взаимодействия с фосфолипидами, что, в свою очередь, имеет важное значение для создания концентрационных трансмембранных градиентов и внутриклеточной компартиментализации. В наших предыдущих исследованиях было установлено, что дефицит в питании ретинола, токоферола и аскорбиновой кислоты в сочетании с недостаточностью незаменимых аминокислот приводит к нарушению жирнокислотного и фосфолипидного состава внутриклеточных мембранных образований гепатоцитов [8].

В литературе имеются сведения о повреждающем влиянии как избыточных доз ретинола, так и его дефицита на мембраны лизосом [12, 22, 26], митохондрий [5, 27], но отсутствуют сведения относительно других мембранных образований клетки, в частности плазматической мембраны печени. Достаточно хорошо изучены и обменные сдвиги в тканях скелетной мускулатуры [2] и структурно-функциональные свойства саркоплазматического ретикулума [1] в условиях Е-авитаминоза. Однако нет никаких сведений о влиянии отдельных витаминов и незаменимых аминокислот на стабильность мембранных образований сердечной мышцы.

Цель настоящей работы заключалась в сравнительном изучении стабильности

мембран саркоплазматического ретикулума (СР) сердечной мышцы и плазматической мембраны печени крыс в зависимости от характера питания, неполноценности его по ретинолу, токоферолу, аскорбиновой кислоте и незаменимым аминокислотам (лизину, метионину, треонину). Комбинированная недостаточность витаминов и незаменимых аминокислот более часто встречается, чем изолированный дефицит того или иного компонента пищи [15]. В данной работе исследовали активность маркерных ферментов саркоплазматического ретикулума миокарда — Ca^{2+} -АТФазы, Mg^{2+} -АТФазы и плазматической мембраны печени — Na^{+} - K^{+} -АТФазы (КФ 3.6.1.3), а также фосфолипидный состав мембран СР миокарда.

Методика

В работе были использованы крысы-самцы ВАР, которые в течение 2 мес получали либо полноценный рацион, либо рацион, дефицитный по ретинолу, токоферолу, аскорбиновой кислоте и незаменимым аминокислотам (лизину, метионину и треонину). Оба рациона были разработаны и апробированы в Казахском филиале Института питания АМН СССР.

Выделение фрагментов СР из сердечной мышцы проводили как описано ранее [7, 18]. АТФазную активность фрагментов СР измеряли методом рН-метрии [21]. Для определения общей АТФазной активности использовали среду инкубации, содержащую 0,1 М КСl; 5 мМ АТФ; 5 мМ MgCl_2 ; 6 мМ оксалата калия; 2,5 мМ имидазола, рН 7,0. Активность Ca^{2+} — Mg^{2+} -АТФазы определяли в той же среде, но с добавлением 6 мМ NaN_3 , а Mg^{2+} -АТФазы — с добавлением этиленгексаминтетраацетата, в инкубационную среду 20 мМ. По разности между активностями Ca^{2+} — Mg^{2+} -АТФазы и Mg^{2+} -АТФазы определяли активность Ca^{2+} -АТФазы. Концентрацию белка определяли по биуретовой реакции. Фосфолипиды из кальцийоксалатных препаратов микросом сердечной мышцы анализировали методом тонкослойной хроматографии в системе хлороформ — метанол — 7 н. аммиак на силикагеле (LS, дисперсность 5/40 мк). Неорганический фосфат определяли, как описано в работе [25].

Плазматические мембраны печени получали как описано ранее [13]. АТФазную активность регистрировали по скорости осво-

Состояние ферментной системы транспорта ионов Ca^{2+} (нмоль/Ф_н/мг белка/1 мин) в мембранах саркоплазматического ретикулума сердечной мышцы крыс при разном характере питания

Рацион	Ca^{2+} -АТФаза	Mg^{2+} -АТФаза	Общая АТФазная активность	Выход белка по фракции микросом, мг на 1 г ткани	СЛ/АТФ
Полноценный	565±61	804±78	1908±113	1,2±0,2	0,70±0,005
Неполноценный	345±52*	753±54	1637±73	1,1±0,2	0,48±0,03*

* Здесь и в табл. 2 звездочкой отмечено $P < 0,05$.

бождения неорганического фосфата [25]. Общую АТФазную активность определяли в среде инкубации следующего состава (в мМ): АТФ 3, MgCl_2 3,5, NaCl 120, KCl 25, трис-HCl-буфер 50, pH 7.6. Mg^{2+} -АТФазу находили в той же среде, содержащей дополнительно убаин (1 мМ). За величину $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазной активности принимали разность между активностями общей и Mg^{2+} -АТФазы. Инкубацию проводили 15 мин при 37 °С. Реакцию начинали внесением мембранного препарата (50 мкг) и останавливали добавлением трихлоруксусной кислоты. Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия Фишера — Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о значительных нарушениях в структуре и функции мембранных образований клетки, возникающих при дефиците в рационе ретинола, токоферола, аскорбиновой кислоты и незаменимых аминокислот (лизина, метионина и треонина). В табл. 1 представлены данные о состоянии системы транспорта ионов Ca^{2+} в мембранах СР сердечной мышцы крыс. Недостаточность витаминов и незаменимых аминокислот сопровождалась снижением активности Ca^{2+} -АТФазы. Активность Mg^{2+} -АТФазы изменялась незначительно.

Известно, что эффективность транспорта Ca^{2+} зависит не только от активности транспортных АТФаз, но и от свойства везикул СР удерживать во внутреннем объеме ионы Ca^{2+} , т. е. от

проницаемости мембраны СР. Увеличение проницаемости мембраны неизбежно приводит к выходу внутривезикулярного кальция, для транспорта которого внутрь везикул требуется дополнительная активация Ca^{2+} -АТФазы.

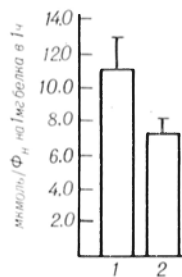
Из данных, представленных в табл. 2, следует, что развитие состояния недостаточности исследованных компонентов пищи приводит к изменению содержания фосфолипидов в мембранах СР миокарда. Так, содержание фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА) существенно снизилось; фракции монофосфоинозотида (МФИ) и фосфатидилхолина (ФХ) оставались без изменений.

Сравнительный анализ данных по эзимиологической характеристике СР и его фосфолипидному составу позволяет считать, что в основе нарушения функциональных характеристик системы ферментативного транспорта Ca^{2+} в мембранах саркоплазматического ретикулума лежит усиление эндогенного перекисного окисления фосфолипидов, приводящее к изменению структурно-функциональной целостности мембран. Недостаточность ретинола, токоферола, аскорбиновой кислоты и незаменимых аминокислот приводила к изменению структурно-функциональных свойств плазматической мембраны печени, что проявлялось в снижении активности $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы (см. рисунок). Если

Таблица 2

Фосфолипидный состав (в мкг Ф_н на 1 мг белка; в скобках — в %) мембран саркоплазматического ретикулума сердечной мышцы при разном характере питания

Рацион	ФС	МФИ	ФХ	ФЭА
Полноценный (контроль)	0,48±0,05 (12,0)	2,12±0,23 (53,1)	0,38±0,04 (9,6)	1,01±0,06 (25,3)
Неполноценный	0,25±0,04* (8,4)	1,88±0,16 (61,4)	0,39±0,07 (12,9)	0,56±0,10* (18,2)



Активность $\text{Na}^+—\text{K}^+$ -АТФазы в плазматических мембранах печени крыс при дефиците в рационе питания ретинола, токоферола, аскорбиновой кислоты и незаменимых аминокислот (лизина, метионина, треонина).

1 — полноценный рацион (контроль); 2 — рацион, дефицитный по витаминам и незаменимым аминокислотам.

в контроле активность $\text{Na}^+—\text{K}^+$ -АТФазы в мембранном препарате составила 11,3 ммоль Φ_n на 1 мг белка за 1 ч, то в условиях пищевой недостаточности эта величина была равна 7,2 ммоль Φ_n на 1 мг за 1 ч.

Известно, что дефицит природных антиоксидантов усиливает процессы перекисления ненасыщенных липидов. Среди веществ, обладающих антиоксидантным действием, важное место в защите от липопероксидации отводят токоферолу, при дефиците которого усиливаются процессы перекисного окисления липидов в эндоплазматическом ретикулуме [20] и митохондриях [4]. Мембраны лизосом высоко чувствительны к повреждающему действию экзогенных перекисей [19], но относительно устойчивы к продуктам перекисного окисления липидов. Перекисное окисление липидов развивается в лизосомах в несколько раз менее интенсивно, чем в митохондриях и микросомах [29]. Мембраны эритроцитов также весьма чувствительны к недостаточности токоферола [6, 28].

Особенности химического строения ретинола и его склонность к аутоокислению [23], повреждение мембранных структур в условиях дефицита и избытка данного витамина [9, 26], а также локализация ретинола в биомембранах [24] позволили предположить, что витамин А обладает способностью стимулировать процессы перекисного окисления липидов мембран. Однако другими исследователями [11] было показано угнетение ретинолом ферментативного и неферментативного путей перекисления липидов.

Интерес к изучению роли аскорбиновой кислоты в поддержании струк-

турной целостности мембранных образований клетки связан не только с ее дефицитом в питании человека, но и с ее участием в аскорбатзависимой системе перекисного окисления липидов в микросомах. Значение аскорбиновой кислоты в регуляции процесса перекисления липидов возрастает с установлением факта возможности инициирования перекисления свободными радикалами, образующимися при окислении исходной молекулы витамина С [31].

Совокупность приведенных данных свидетельствует о том, что антиокислительные и окислительные свойства исследуемых витаминов имеют важное значение для понимания механизма их биологического действия. Многообразие проявлений недостаточности токоферола, ретинола и аскорбиновой кислоты обусловлено не только широким спектром повреждения клеточных и внутриклеточных структур, но и сложностью и своеобразием функционирования этих витаминов в организме.

Поскольку Ca^{2+} -зависимая АТФаза саркоплазматического ретикулума и $\text{Na}^+—\text{K}^+$ -АТФаза плазматической мембраны печени являются интегральными белками, активность их во многом определяется степенью насыщенности жирнокислотных остатков окружающей матрицы. Поэтому уменьшение активности транспортных АТФаз в условиях комбинированной недостаточности витаминов и незаменимых аминокислот может быть следствием изменения липидного микроокружения. Дефицит полиеновых ацилов приводит к изменению функционально активной конформации ферментов. Конечно, нельзя исключить и другие возможности ингибирования транспортных АТФаз при перекисном окислении липидов. Образующиеся в процессе перекисного окисления диальдегиды, взаимодействуя со свободными аминокетогруппами, инициируют образование Шиффовых оснований и соответственно внутри- и межмолекулярных сшивок, что сопровождается необратимой инактивацией фермента [31].

Аминокислотный дисбаланс, как показали результаты исследования, приводит к самым разнообразным изменениям в обмене веществ, включая процессы синтеза нуклеиновых кислот и белка [15, 16].

В норме существуют определенные взаимосвязи между отдельными фак-

торами питания, определяющими в конечном счете метаболический фон организма [16]. Отклонение от сбалансированного питания приводит к изменению этих взаимосвязей и развитию патологических реакций. Вполне вероятно, что патогенетические механизмы нарушения функций транспортных АТФаз, в условиях комбинированного дефицита незаменимых аминокислот и витаминов гораздо сложнее и многообразнее, чем при дефиците одного какого-либо витамина, и не ограничиваются лишь процессами перекисного окисления липидов.

Следовательно, характеру питания, степени его полноценности по отдельным ингредиентам принадлежит существенное значение в формировании ферментных систем транспорта ионов в мембранных образованиях миокарда и печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипенко Ю. В., Газдаров А. К., Каган В. Е. и др. — Биохимия, 1976, т. 41, № 10, с. 1898.
2. Иванов Н. И., Коровкин Б. Ф., Пинаев Г. П. Биохимия мышц. М., 1977.
3. Каган В. Е., Архипенко Ю. В., Козлов Ю. П. — В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982, с. 50.
4. Козлов Ю. П., Данилов В. С., Каган В. Е. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
5. Конь Н. Я., Темиркулова Р. С., Шириня Л. И. — Вopr. мед. химии, 1980, № 4, с. 528.
6. Курский М. Д., Григорьева В. А., Медовар Е. Н., Мешкова Л. И. — Укр. биохим. журн., 1978, т. 50, № 1, с. 85.
7. Левицкий Д. О., Алиев М. К., Левченко Т. С. и др. — Биохимия, 1976, т. 41, № 5, с. 854.
8. Мамырбаев А. А., Тажиббаев Ш. С., Тахтаев Ф. Х. и др. — В кн.: Актуальные вопросы проблемы питания. Алма-Ата, 1982, с. 126.
9. Покровский А. А. — В кн.: Современные проблемы биохимии дыхания и клиника. Иваново, 1972, с. 60.
10. Покровский А. А. Роль биохимии в развитии науки о питании. М., 1974.
11. Покровский А. А., Лапина Н. В., Конь Н. Я. — Докл. АН СССР, 1974, т. 217, с. 1435.
12. Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. М., 1976.

13. Поспелова А. В. — В кн.: Современные методы в биохимии. Под ред. В. Н. Ореховича. М., 1977, с. 376.
14. Спиричев В. Б., Конь Н. Я. — Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1978, т. 23, № 4, с. 425.
15. Шарманов Т. Ш. Витамины А и белковое питание. М., 1979.
16. Шарманов Т. Ш., Тажиббаев Ш. С. — Вестн. АМН СССР, 1978, № 3, с. 35.
17. De Luca L., Yuspa S. H. — Exp. Cell. Res., 1974, vol. 86, p. 106.
18. Harigaya S., Scharltz A. — Circulat. Res., 1969, v. 25, p. 781.
19. Desai I. D., Sawant P. L., Tappel A. L. — Biochim. biophys. Acta, 1964, vol. 86, p. 277.
20. Hochstein P., Ernter L. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1963, v. 12, p. 388.
21. Johnson J. H., Pressman B. C. — Biochim. biophys. Acta, 1968, vol. 153, p. 500.
22. Kim H. J., Hiroi Y., Natori Y. — J. Biochem. (Tokyo), 1976, vol. 79, p. 803.
23. Lucy J. A. — J. Biochem. (Tokyo), 1965, vol. 96, p. 12.
24. Mack J. P. — Biochim. biophys. Acta, 1972, vol. 217, p. 203.
25. Rathban W. B., Bettlach M. V. — Analyt. Biochem., 1969, vol. 28, p. 236.
26. Roels O. A. — In: Lysosomes. New York, 1969, p. 254.
27. Seward C. R., Vaghan G., Hove E. L. — J. biol. Chem., 1966, vol. 241, p. 1229.
28. Silber R., Winter R., Kayden H. J. — J. clin. Invest., 1969, vol. 48, p. 1089.
29. Tappel A. L. — Fed. Proc., 1965, vol. 24, p. 73.

Поступила 09.01.84

EFFECT OF DIETARY DEFICIENCY ON ACTIVITY OF TRANSPORT ATPASES IN MEMBRANES OF HEART MUSCLE AND LIVER TISSUE

T. Sh. Sharmanov, F. Kh. Takhtayev,
Sh. S. Tazhibayev, A. A. Mamyrbayev,
V. N. Piven

Kazakh Branch of the Institute of Nutrition,
Academy of Medical Sciences of the USSR,
Alma-Ata

Distinct impairments were found in membranes of rat myocardium and liver tissue in animals kept on food, which was deficient in retinol, tocopherol, ascorbic acid and essential amino acids lysine, methionine and threonine. Deficiency in these dietary components led to a decrease in content of phosphatidyl ethanolamine and phosphatidyl serine and in activity of total ATPase and Ca^{2+} -ATPase in membranes of myocardial sarcoplasmic reticulum as well as to decrease Na^{+} , K^{+} -ATPase activity in liver plasmatic membrane.